

**UNTERSUCHUNGEN ZUR EPIZOOTIOLOGIE
BOVINER ROTA - UND CORONAVIREN**

HERMANN KETTENACKER

1988

Disbui. München



Digitized by the Internet Archive
in 2026

Aus dem Institut für Medizinische Mikrobiologie,
Infektions- und Seuchenmedizin
der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität
München

Vorstand: Prof. Dr. Dr. h. c. mult. A. Mayr

**Untersuchungen zur Epizootiologie boviner Rota- und
Coronaviren.**

Inaugural-Dissertation
zur Erlangung der tiermedizinischen Doktorwürde der
Tierärztlichen Fakultät der Ludwig-Maximilians-
Universität
München

von
Hermann Kettenacker
aus

Dürmentingen
München 1988

Gedruckt mit Genehmigung der Tierärztlichen Fakultät
der Universität München

Dekan: Prof. Dr. M. Rüsse

Referent: Prof. Dr. Dr.h.c.mult. A. Mayr

Korreferent: Prof. Dr. J. Boessneck

Tag der Promotion: 29. Juli 1988

CHARACTERISTICS

1. CHARACTERISTICS

2. CHARACTERISTICS

3. CHARACTERISTICS

4. CHARACTERISTICS

5. CHARACTERISTICS

Meinen Eltern

6. CHARACTERISTICS

7. CHARACTERISTICS

8. CHARACTERISTICS

9. CHARACTERISTICS

10. CHARACTERISTICS

11. CHARACTERISTICS

12. CHARACTERISTICS

13. CHARACTERISTICS

14. CHARACTERISTICS

15. CHARACTERISTICS

16. CHARACTERISTICS

17. CHARACTERISTICS

18. CHARACTERISTICS

19. CHARACTERISTICS

20. CHARACTERISTICS

21. CHARACTERISTICS

22. CHARACTERISTICS

23. CHARACTERISTICS

24. CHARACTERISTICS

25. CHARACTERISTICS

INHALTSVERZEICHNIS

1. <u>Einleitung</u>	1
2. <u>Schrifttum</u>	2
2.1. Bovine Rotaviren	2
2.1.1. Morphologie und Klassifizierung boviner Rotaviren	2
2.1.2. Biologie boviner Rotaviren	5
2.1.3. Nachweis boviner Rotaviren	6
2.2. Bovine Coronaviren	7
2.2.3. Nachweis boviner Coronaviren	9
2.3. Immunität bei Infektionen mit Rota- und Coronaviren	10
2.4. Immunisierung gegen Rotavirus- und Coronaviruserkrankungen	12
2.4.1. Aktive Immunisierung	12
2.4.2. Passive Immunisierung	13
3. <u>Eigene Untersuchungen</u>	16
3.1. Material und Methoden	16
3.1.1. Tierbestände	16
3.1.2. Betriebsbeschreibung	16
3.1.3. Bestandsprobleme	16
3.1.3.1. Betrieb A	16
3.1.3.2. Betrieb B	19
3.1.3.3. Betrieb C	19
3.1.3.4. Betrieb D	20

3.1.4. Probenentnahme	20
3.1.5. Untersuchung der Proben	21
3.1.5.1. Probenvorbereitung	21
3.1.5.2. Rotavirusantigennachweis	21
3.1.5.3. Coronavirusantigennachweis	22
3.1.6. Statistische Auswertung der Ergebnisse	22
3.2. Ergebnisse	24
4. <u>Besprechung der Ergebnisse</u>	36
5. <u>Zusammenfassung</u>	40
6. <u>Summary</u>	41
7. <u>Literaturverzeichnis</u>	42

1. Einleitung

Durchfallerkrankungen bei neugeborenen Kälbern stellen auch in der heutigen Zeit trotz moderner Aufzuchtstechniken eine große wirtschaftliche Einbuße dar. Da die Erkrankungen bei Neugeborenen in sehr kurzer Zeit lebensbedrohend werden, ist es unbedingt erforderlich, eine rasche und gezielte Therapie durchzuführen. Die Einleitung solcher Maßnahmen und vor allem die Durchführung prophylaktischer Schritte erfordert eine genaue und umfassende Diagnosestellung, die den mikroskopischen Nachweis von Protozoen, kulturellen Nachweis von Bakterien und den Nachweis von Rota- und Coronaviren einschließen muß. In den letzten Jahren gingen die Bemühungen dahin, geeignete Prophylaxemaßnahmen zu finden. Eine Reihe von Untersuchungen hat gezeigt, daß mit Muttertierimpfungen, die gegen die wichtigsten Erreger gerichtet sind, Durchfallerkrankungen und dadurch bedingte Todesfälle wirkungsvoll verhindert werden können. Unbekannt ist bisher, ob solche Impfungen die Epizootiologie viraler Durchfallerkrankungen beeinflussen. Ziel der vorliegenden Arbeit war es, die Epizootiologie von Rota- und Coronaviren über einen längeren Zeitraum zu untersuchen und mögliche Unterschiede zwischen mit Muttertieriervakzine geimpften Beständen und nichtgeimpften Beständen herauszustellen.

2. Schrifttum

2.1. Bovine Rotaviren

2.1.1. Morphologie und Klassifizierung boviner Rotaviren

Rotaviren sind als Erreger von Enteritiden bei verschiedenen Tierarten, sowie dem Menschen in vielen Ländern nachgewiesen worden, so daß man von einer weltweiten Verbreitung dieser Viren sprechen kann. Bovines Rotavirus (BRV) wurde erstmals von Mebus et al. (1969) in den USA bei durchfallkranken Kälbern beschrieben. In der Bundesrepublik Deutschland wurde BRV zuerst von Dirksen und Bachmann (1977) beschrieben. Rotaviren stellen ein eigenes Genus innerhalb der Familie Reoviridae dar. Die Virionen sind unbehüllt und haben eine runde bis hexagonale Form. Sie bestehen aus einem äußeren und einem inneren Kapsid mit einem zentralen Core, das die Nukleinsäure enthält. Der Durchmesser von kompletten Rotaviruspartikeln beträgt 65-68 nm, wobei das innere Kapsid 60 nm ausmacht (Scherrer und Cohen, 1978). Rotaviren sind sehr stabil bei Raumtemperatur, sie überstehen aber auch Temperaturen bis 60 C (Woode und Bridger, 1975); sie sind dabei gleichzeitig sehr säurestabil (pH 2 - 9,5) und gegen Formalinbehandlung relativ unempfindlich (Snodgrass und Herring, 1977).

In zahlreichen Untersuchungen wurden Rotaviren von verschiedenen Spezies als RNS-haltige Viren charakterisiert. Die RNS ist doppelsträngig und segmentiert. Das Genom besteht aus elf Segmenten mit einem Molekulargewicht von $11-12 \times 10^6$ bei BRV (Lit. bei Estes et al., 1983). Die Strukturproteine verschiedener

Rotaviren unterscheiden sich nach Auftrennung mit Hilfe der Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE) sowohl im Hinblick auf die Zahl als auch im Molekulargewicht (Estes et al., 1983). Die genauesten Ergebnisse in Bezug auf Polypeptide liegen über das vom Affen isolierte Rotavirus SA-11 vor. Hier haben Ericson et al. (1982) festgestellt, daß es sich bei VP-2 und VP-6 um die Hauptproteine handelt, die im inneren Kapsid des Virions lokalisiert sind. Auf dem äußeren Kapsid ist das Glykoprotein VP-7 lokalisiert. Seine Bedeutung ist in Neutralisationstests mit Hilfe des Plaque-Reduktions-Tests (Estes et al., 1983) überprüft worden. Diese Antigene sind danach serotyp-spezifisch und können durch spezifische Antikörper neutralisiert werden (Bastardo et al., 1981). Beim Rind sind mindestens drei Serotypen bekannt, aber 90% aller Isolate gehören zu einem Serotyp, dessen Referenzstamm das Isolat UK ist (Bridger und Brown, 1984; Brüssow et al., 1987). Im Gegensatz dazu können Antikörper, die gegen das Gruppenantigen VP-6 mit einem Molekulargewicht von 46×10^3 , das vom sechsten Gensegment kodiert wird (Kalica et al., 1981), die Virusinfektiosität nicht neutralisieren. Dieses Gruppenantigen ist den meisten bekannten Rotavirusisolaten gemeinsam; sie werden deshalb der Gruppe A zugeordnet (Pedley et al., 1983). Innerhalb dieser Gruppe lassen sich mit einer Reihe serologischer Nachweisverfahren, wie z.B. ELISA oder KBR, zwei Subgruppen definieren. Soweit bisher untersucht, gehören alle beim Rind isolierten Rotaviren der Subgruppe I an (Kapikian et al., 1981).

Zur genaueren Identifizierung von Virusisolaten etablierten Lourenco et al. (1981) ein Schema, das auf den unterschiedlichen Migrationsmustern der einzelnen



RNS-Segmente in der PAGE beruht. RNS-Banden der Segmente 1-4 gehören zur Gruppe I, die Banden 5 und 6 zur Gruppe II, die Banden 7-9 zur Gruppe III und die Banden 10 und 11 zur Gruppe IV. Unterschiede in den relativen Migrationsmustern der RNS-Banden werden mit kleinen Buchstaben bezeichnet. Der Elektropherotyp eines Isolates wird so als eine Kombination der beiden Bezeichnungen ausgedrückt, z. B. Ia, IIa, IIIa und IVa. Dieses Schema ermöglicht eine rasche Klassifizierung, die gute Aufschlüsse über die Epizootiologie zuläßt. Es erlaubt jedoch keine Angaben über Serotyp bzw. Subgruppenspezifität, daher hat es sich auch nicht allgemein durchgesetzt.

Nachdem McNulty et al. (1981) beim Geflügel sowie Bohl et al. (1982) beim Schwein Rotaviren entdeckt hatten, die mit den üblichen serologischen Nachweisverfahren nicht diagnostiziert werden konnten und völlig andere Migrationsmuster aufwiesen, wurden auch beim Kalb systematische Untersuchungen über die Verbreitung solcher atypischen Rotaviren vorgenommen. Die Zahl der in der Gelelektrophorese gefundenen atypischen Viren lag im süddeutschen Raum bei 0,28% (Eichhorn et al., 1985), in Großbritannien bei 0,9% (Snodgrass et al., 1984). Atypische Rotaviren, denen das gruppenspezifische Antigen der Rotaviren der Gruppe A fehlt, werden den Gruppen B-F zugeordnet (Pedley et al., 1983).

2.1.2. Biologie boviner Rotaviren

Klinische Erscheinungen werden in erster Linie bei Neugeborenen beobachtet, wobei die Erkrankung bei Kälbern in den ersten beiden Lebenswochen mitunter letal verläuft (Woode und Bridger, 1975). Da bereits Neugeborene mit ein oder zwei Tagen häufig BRV ausscheiden, wurde zunächst geschlossen, daß eine Infektion diaplazentar erfolgen müsse (Kapikian et al., 1980). Diese Behauptung konnte allerdings nicht gehalten werden. In Versuchen mit Kälbern, die per Kaiserschnitt entwickelt worden waren, konnte gezeigt werden, daß keines der Kälber Serumantikörper gegen Rotaviren hatte, keine Immunität besaß und nicht aktiv Virus ausschied (Kapikian et al., 1980). Die Hauptquelle für Neuinfektionen dürften somit ältere, klinisch inapparent infizierte Tiere sein, die mit dem Kot immer wieder infektiöses Virus ausscheiden, das häufig mit spezifischen Antikörpern komplexiert ist (Crouch und Acres, 1984). Obwohl unter natürlichen Bedingungen Rotavirusinfektionen spezies-spezifisch auftreten, können einzelne Stämme auch andere Spezies infizieren, unter anderem auch den Menschen. (Bridger et al., 1975).

Bei der Infektion mit BRV handelt es sich um eine strikt lokale Infektion des Dünndarmes mit ausschließlich intestinale Ansteckungsweg, das heißt orale Aufnahme des Erregers und Ausscheidung über die Fäzes. Angriffspunkte von BRV sind ausschließlich differenzierte Schleimhautepithelzellen, vor allem des Jejunums, wobei die rasche Virusvermehrung zum Funktionsverlust des Zottenepithels mit Abschilferung der infizierten Epithelzellen führt; Malabsorption und besserer Angriffspunkt für bakterielle Sekundärinfektionen stellen

die schwersten Folgen dar. Eine Reihe von Untersuchungen hat gezeigt, daß schwere klinische Bilder meist von Mischinfektionen verursacht werden und daß Mischinfektionen, zumindest von BRV und E.coli, synergistisch wirken können (Snodgrass et al., 1982; Hess et al., 1984).

Eine saisonale Häufung der Ausscheidung von BRV in den Wintermonaten wurde von einigen Autoren festgestellt (De Leeuw et al., 1980), wobei nicht immer klar war, ob klimatische Ursachen oder erhöhter Infektionsdruck bedingt durch höhere Abkalberaten ausschlaggebend waren. In der Regel erkrankten Kälber frühestens drei Tage nach der Geburt an BRV (De Leeuw et al., 1980; McNulty et al., 1976; Acres und Babiuk, 1978; Woode, 1978).

2.1.3. Nachweis boviner Rotaviren

Der Nachweis von Rotaviren kann mit einer Reihe von Techniken geführt werden. Gute Ergebnisse lassen sich, vor allem für den raschen Rotavirusnachweis, mit dem Elektronenmikroskop (EM) gewinnen (Mebus et al., 1969; Flewett et al., 1974; Bishop et al., 1974). Empfindlicher und für große Probenzahlen geeigneter sind ELISA-Verfahren (Volken et al., 1977; Bachmann, 1979). Solche Tests sind seit einigen Jahren auch kommerziell erhältlich und daher weit verbreitet. Hoher technischer Aufwand (Isotopenlabor) schränkt den Einsatz von Radioimmun-Assay (RIA), die Notwendigkeit von frischem Probenmaterial die Anwendung der Immunfluoreszenz-Technik (IFT) ein. Ein weiterer schneller und empfindlicher Test ist der direkte Nachweis viraler RNS durch Polyacrylamidgelelektrophorese (PAGE) (Espejo et al., 1978).

2.2. Bovine Coronaviren

2.2.1. Morphologie und Klassifizierung von Coronaviren

Bovine Coronaviren (BCV) werden innerhalb der Familie Coronaviridae klassifiziert (Matthews, 1982). Die Virionen erscheinen als pleomorphe, Überwiegend rundliche Partikel mit einem Durchmesser von 75-160 nm. Sie sind behüllt, wobei von ihrer Hülle Projektionen ausgehen, die ca. 10-24 nm lang sind. BCV besitzen eine einsträngige, lineare, nicht segmentierte RNS, deren Molekulargewicht ca. $3,8 \times 10^6$ beträgt (Guy und Brian, 1979; Sidell et al., 1982). Zwischen Coronaviren, die von verschiedenen Spezies isoliert worden sind, besteht eine unterschiedliche Antigenverwandtschaft. Aufgrund verschiedener serologischer Verfahren lassen sich die Coronaviren der Säugetiere in mindestens zwei antigene Gruppen einteilen, wobei die vom Rind isolierten Coronaviren zur antigenen Gruppe II gehören. Bei den bisher untersuchten BCV-Isolaten wurden keine antigenetisch unterscheidbaren Serotypen gefunden (Garwes, 1982; Lu, 1985). Serologisch verhalten sich zwar alle BCV-Isolate gleich, wesentliche biologische Unterschiede sind dennoch gegeben. So besitzen einige BCV-Isolate hämagglutinierende Eigenschaften bei 37°C (Sato et al., 1977; Lu, 1985), wogegen andere Isolate bei dieser Temperatur von den Erythrozyten eluieren (Ellens et al., 1978). Auch in ihrem Verhalten gegen niedrige pH-Werte unterscheiden sich einige BCV-Isolate (Lu, 1985). Ob aus diesen unterschiedlichen biologischen Eigenschaften auch eine unterschiedliche Pathogenität resultiert, ist nicht bekannt.

2.2.2. Biologie boviner Coronaviren

1972 wurde bovines Coronavirus (BCV) erstmals von Stair et al. beschrieben; bereits 1973 glückte Mebus et al. die erfolgreiche Isolierung eines cytopathogenen BCV-Stammes (NCDCV) in Zellkultur. In den vergangenen Jahren wurde das Vorkommen von BCV in vielen Ländern mit verschiedenen Nachweisverfahren bewiesen, so daß man auch hier, wie bei BRV, von einer weltweiten Verbreitung sprechen kann (Garwes, 1982).

Eine Untersuchung von Marsolais et al. (1978) über die Häufigkeit von BCV hat in 11 % der Proben BCV nachgewiesen. In einer neueren Arbeit berichteten Baljer et al. (1987) ebenfalls von 11 % BCV-positiven Kotproben, die über einen Zeitraum von zwei Jahren gesammelt worden waren. Interessant war die Feststellung der Autoren, daß weder eine signifikante jahreszeitliche noch eine altersabhängige Häufung von BCV gesehen werden konnte. Dagegen war der Zeitpunkt der Probenentnahme von großer Bedeutung. Proben, die zwei bis drei Tage nach klinischer Manifestation von Durchfall entnommen worden waren, zeigten in 21 % der Proben BCV, wogegen der Anteil von BCV in Proben, die nach vier bis fünf Tagen entnommen worden waren, auf 11 % sank. Wurden die Proben noch später entnommen, lag der Anteil der BCV-positiven Proben nur noch bei 5 % . Wie schon bei BRV dargestellt, liegen auch bei BCV häufig Mischinfektionen vor (Baljer et al., 1987; Nagy et al., 1986), wobei die Kombination mit BRV überwiegt.

In fast allen untersuchten Rinderseren konnten Antikörper gegen BCV festgestellt werden, was als serologische Bestätigung der bereits behaupteten ubiquitären

Verbreitung zu werten ist (Sato et al., 1981; Lu, 1985). Die Herkunft von Antikörpern gegen BCV in vielen menschlichen Seren ist noch unklar; möglich wäre, daß es sich um Antikörper gegen humane respiratorische Coronaviren handelt (Czerny, 1985), oder daß diese Antikörper gegen humane enterische Coronaviren gerichtet sind (Battaglia, 1987), oder daß es sich um von BCV induzierte Antikörper handelt, was BCV zu den Zoonoseerregern rechnen ließe (Storz und Rott, 1981). Genauso wie bei BRV dienen auch bei BCV ältere Rinder als Virusreservoir (Crouch und Acres, 1984). Zelltropismus sowie Pathogenese von BCV entsprechen im wesentlichen denen von BRV und wurden dort ausführlich besprochen. In einer neueren Untersuchung haben Van Kruiningen et al. (1987) jedoch auch bei Kälbern mit Enterocolitis Coronaviren gefunden, die am Krankheitsgeschehen mitverantwortlich sein sollen.

2.2.3. Nachweis boviner Coronaviren

Zur Diagnose von BCV bedient man sich verschiedener Verfahren, die jedoch zum Teil einen erheblichen apparativen Aufwand (Elektronenmikroskop) erfordern oder in ihrer Aussagekraft sehr reduziert sind (z.B. der Hämadsorptions-Elution-Hämagglutinationstest (HEHA) (Ellens et al., 1978), oder die Hämagglutinationshemmungsreaktion (HAH)). Am effektivsten, vor allem in Anbetracht großer Probenzahlen erscheinen ELISA-Techniken (Crouch et al., 1984; Chen, 1988). Beide Arbeiten verwenden zwei monoklonale Antikörper (MAK) als Fangantikörper und polyklonale Nachweisantikörper.

2.3. Immunität bei Infektionen mit Rota- und Coronaviren

Bei Säugetieren ist der Transfer von Immunglobulinen zum Neugeborenen von der Plazentationsform abhängig. Beim Rind ist aufgrund einer Plazenta epitheliochorialis ein solcher Transfer intrauterin nicht möglich, daher muß das Neugeborene Immunglobuline über das Kolostrum erhalten. Erschwerend für das Neugeborene kommt hinzu, daß der Immunglobulingehalt des Kolostrums bereits nach ein bis drei Tagen drastisch abgefallen ist, und daß sich die Darmschranke des Kalbes für Immunglobuline im gleichen Zeitraum schließt (Kim und Schmidt, 1983). Für eine passive systemische Immunität gegen Allgemeininfektionen reicht diese Zeit aus, sofern das Kalb in den ersten 12-36 Lebensstunden genügend Kolostrum erhält, und sofern humorale Antikörper bei der Immunität gegen diese Infektionen die ausschlaggebende Rolle spielen (Bachmann, 1983).

Bei Rota- und Coronavirusinfektionen, die ja strikte Lokalinfektionen des Dünndarms sind, ist eine systemische passive Immunität wirkungslos; hier sind lokale Antikörper im Darmlumen von entscheidender Bedeutung. Beim Rind scheint es vor allem spezifisches IgG₁ zu sein, das sich an Darmepithelzellen bindet und so das Haften der Viren verhindert. Woode et al. (1975) stellten fest, daß Kälber, trotz Rotavirusantikörpern im Serum, bei einer oralen Infektion mit Rotavirus am zweiten bis dritten Tag erkrankten. Zu ähnlichen Ergebnissen kamen Acres und Babiuk (1978); auch sie konnten keinen Zusammenhang zwischen dem Auftreten von Rotavirusinfektionen bei Kälbern und deren Antikörpertiter im Serum feststellen. Tzipori et al. (1981) gelang es, sowohl bei Kälbern mit hohem Rotavirusantikörper-

Titer, als auch bei Kälbern mit niedrigem Rotavirusantikörper-Titer im Serum, nach Testinfektion schwere Krankheitsbilder auszulösen. Nur McNulty et al. (1976) stellten in einem Versuch mit 20 Kälbern eine Beziehung zwischen Schwere der Erkrankung und Globulingehalt im Serum der Kälber fest. Als Grenzwert wurde 30 mg/ml im Serum der Kälber angegeben, wobei die spezifischen Rotavirus-Antikörpertiter jedoch nicht bestimmt wurden.

Einig waren sich die Autoren über die Bedeutung der in Kolostrum und Milch vorhandenen und im Darmlumen des Neugeborenen wirksamen Antikörper. Untersuchungen von Snodgrass und Wells (1976) bei Lämmern haben gezeigt, daß humorale Antikörper ohne Bedeutung für den Schutz der Lämmer sind, wohingegen ein ausreichender Schutz vor einer Rotavirusinfektion durch orale Verabreichung von spezifischen Antikörpern aus dem Kolostrum oder Serum aufgebaut werden konnte.

Inwieweit neben den Immunglobulinen noch andere Faktoren bei der Immunabwehr neonataler Erkrankungen eine Rolle spielen, ist noch unklar. Diskutiert werden die Schutzfunktionen von zellulären Bestandteilen oder Enzymen der Milch (Bachmann et al., 1982). Ob weitere, unspezifische Abwehrmechanismen, wie Induzierung von Interferon oder Stimulierung der spontanen zellvermittelten Zytotoxizität bei lokalen Darminfektionen von Bedeutung sind, ist ebenso unklar.

2.4. Immunisierung gegen Rotavirus- und Coronaviruserkrankungen

2.4.1. Aktive Immunisierung

Die aktive Immunisierung des Neugeborenen wurde sowohl gegen Infektionen mit Rota- und Coronaviren als auch gegen E.coli erprobt. Gegen durch E.coli bedingte Diarrhoen wurden durch orale Gabe hoher Dosen inaktivierter Keime gute Erfolge erzielt (Baljer, 1977). Nachteilig ist jedoch, daß dieser Impfstoff nur als stallspezifische Vakzine wirksam ist und zudem über zehn Tage verabreicht werden muß.

Eine Lebendvakzine gegen Rota- und Coronavirusinfektionen wurde 1972 in den USA entwickelt. Nach oraler Verabreichung sofort nach der Geburt soll sich innerhalb von drei (Mebus et al., 1973) bzw. 7 - 21 Tagen (Woode et al., 1978) eine Immunität gegenüber einer Infektion ausbilden. Obwohl zunächst über gute Erfolge berichtet wurde (Acres und Radostits, 1976), konnten in Doppelblindversuchen keine signifikanten Unterschiede zwischen immunisierten und nichtimmunisierten Tieren festgestellt werden. Bürki et al. (1983) stellten in einem Versuch mit Rotavirus-Lebendvakzine, die sechs Stunden vor der ersten Kolostrumaufnahme peroral verabreicht worden war, mit Hilfe von ELISA (Kotproben) und KBR (Blutserum) fest, daß ein Impferfolg von maternalen Antikörpern zunichte gemacht wird. Es konnte auch keine antigenetische Sensibilisierung erreicht werden. De Leeuw et al. kamen bereits 1980 zu ähnlichen Ergebnissen.

Da eine aktive Immunisierung gegen Rotavirusinfektionen keinen ausreichenden Schutz gewährt, wurden geeignete Möglichkeiten gesucht, die die Anforderungen an eine gute Immunophylaxe erfüllen.

2.4.2. Passive Immunisierung

Die Erkenntnis, daß humorale Antikörper keinen ausreichenden Schutz gegen lokale Infektionskrankheiten bewirken können und die Erfahrung, daß lokal vorhandene oder zugeführte Immunglobuline einen guten Schutz darstellen, hat dazu geführt, Wege zu suchen, die Quantität und Qualität der Immunglobuline im Milchdrüsensekret zu verbessern und die Ausscheidungsdauer zu verlängern. Ziel ist es, die Zeitspanne bis zum Aufbau einer eigenen Immunität des Neugeborenen zu überbrücken (Snodgrass und Wells, 1976). Dazu ist das Neugeborene auf eine kontinuierliche Zufuhr von maternalen Immunglobulinen auch in der nachkolostralen Phase angewiesen, denn nur sie können eine passive lokale Immunität im Darmlumen schaffen. Aufgrund der Tatsache, daß die betreffenden Erreger endemisch vorkommen, sind die Tiere in Problembeständen intestinal sensibilisiert, womit die Muttertierimpfung einer Boosterimpfung entspricht (Bachmann et al., 1982). Svennerholm et al. (1977) zeigten beim Mensch, daß sich durch parenterale Immunisierung eine Stimulierung der Ausscheidung spezifischer Antikörper in Kolostrum und Milch erzielen läßt, wenn die primäre Infektion über den Darmtrakt erfolgt. Als Ursache für den Anstieg der Immunglobuline im Milchdrüsensekret wird ein dem "gut-mammary-link" entsprechender Vorgang angenommen. Unter diesem Begriff

versteht man den von Bohl et al. (1972) beim Schwein, sowie von Svennerholm et al. (1977) beim Menschen beschriebenen Wanderungsweg Antigen-sensibilisierten Lymphozyten in die Milchdrüse. Nach Antigenkontakt wandern Vorläufer von IgA-produzierenden B-Lymphozyten in die Mesenteriallymphknoten, wo sie zu Blastzellen differenzieren. Über Lymphbahn und Ductus thoracicus gelangen sie in den Blutkreislauf. Bevorzugte Ansiedlungsorte sind die Lamina propria des Darmes, sowie die Basalmembran exokriner Drüsen. Beim Rind scheinen jedoch besonders IgG1-produzierende Lymphozyten bei der lokalen Immunität auf Schleimhäuten von Bedeutung zu sein.

Snodgrass et al. (1980) gelang es durch parenterale Applikation von inaktivierten Antigenen zusammen mit Adjuvantien sechs und zwei Wochen ante partum die Antikörperausscheidung mit der Milch zu steigern und vor allem erheblich zu verlängern. Untersuchungen von Eichhorn (1981) zeigten zwar keinen Anstieg der Antikörper-Titer im Kolostrum, jedoch eine signifikante Verlängerung der Antikörperausscheidung im Nachkolostrum. Dagegen konnten Myers und Snodgrass (1982) und Thiel (1984) beim Vergleich von Rotavirusantikörper-Titer in Kolostrum und Milch zwischen geimpften und nichtgeimpften Muttertieren keinen Unterschied feststellen; allerdings verwendeten sie die Vakzine eines anderen Herstellers. In einigen Feldversuchen konnte die positive Wirkung der Muttertieriervakzinierung unter Beweis gestellt werden. (Bachmann et al., 1983) Über einen auffallenden Rückgang von durchfallbedingten Todesfällen bei Kälbern nach Einsatz industriell hergestellter Vakzinen berichten auch Kunz (1982) und Wieda (1985). Häufig wird postuliert, daß eine konsequente Anwendung der Muttertierimpfung im

gesamten Bestand den Infektionsdruck reduziert (Eichhorn und Bachmann, 1983). Ob diese Impfprogramme die Epizootiologie viraler Durchfallerreger beeinflussen, ist jedoch nicht bekannt.

3. Eigene Untersuchungen

3.1. Material und Methoden

3.1.1. Tierbestände

In die Untersuchung waren vier Betriebe einbezogen worden, die alle im Alb-Donau-Kreis (Baden-Württemberg) angesiedelt sind.

Als Auswahlkriterium diente lediglich das Bestandsproblem "Kälberdurchfall" mit nachgewiesener viraler Beteiligung. Der Erregernachweis war durch den Rindergesundheitsdienst in Aulendorf erfolgt.

Zwei Betriebe lassen ihre Kühe mit Muttertiervakzine (Behring, Marburg) impfen, die beiden anderen setzen prophylaktisch nur diätetische Maßnahmen ein.

3.1.2. Betriebsbeschreibung

Die relevanten Daten der in die Untersuchung einbezogenen Betriebe sind in Tabelle 1 zusammengefaßt. In keinem der Bestände wurden Kälber zugekauft. Die Tränketechnik war in allen Betrieben ähnlich, aber nicht identisch. Einzelheiten sind in Tabelle 2 zusammengefaßt.

3.1.3. Bestandsprobleme

3.1.3.1. Betrieb A

Das Problem Kälberdurchfall besteht seit Anfang 1985; mehrere Kälber verendeten innerhalb der ersten drei

Tabelle 1: Angaben über Tierzahlen und Aufstallungsformen in den einzelnen Betrieben

	Betrieb A	Betrieb B	Betrieb C	Betrieb D
Gesamtzahl der Rinder	80	50	75	100
Anzahl der Kühe	28	22	40	40
Aufstallung der Kühe	Anbindehaltung auf Gitterrost	Anbindehaltung auf Gitterrost	Boxenlaufstall auf Spalten	Boxenlaufstall mit Schrabber
Aufstallung der Kälber	Einzelboxen bis 4 Wo. Gruppenhaltung	Einzelboxen separater Stall	Anbindehaltung mit Stroh im separaten Stall	Anbindehaltung mit Stroh im separaten Stall
Reinigung der Kälberstandplätze	Desinfektionsmittel	Haushalts- waschmittel	Wasser keine Desinf.	Wasser keine Desinf.

Tabelle 2: Zusammenstellung der Tränke-technik in den einzelnen Betrieben

	Betrieb A	Betrieb B	Betrieb C	Betrieb D
Kolostrumgabe nach Std.	sofort	nächste Melkzeit	2-3 Std.	3-4 Std.
Literzahl/Tränkeeinheit	1 Liter	1,5-2 Liter	1 Liter	1,5 Liter
Anzahl d. Tränken/Tag	3	kleine Kälber: 3 große Kälber: 2	3	3
Dauer d. Muttermilchgabe	4 Wochen	3-4 Wochen	4 Wochen	1 Woche
Dauer d. MAT-Gabe	3 Monate	4 Monate	6 Wochen	6 Wochen
Weitere Fütterung	Stallfutter	siehe A	siehe A	siehe A
	u. Kälberkörner			

Wochen. Eine Häufung von Krankheitsfällen in den Wintermonaten wird beobachtet.

Als prophylaktische Maßnahmen werden durchgeführt: Zweimalige Impfung aller Muttertiere sechs bzw. zwei Wochen ante partum subkutan mit einer kombinierten, inaktivierten Muttertiervakzine (Behring, Marburg). In Zeiten mit hohen Geburtenraten werden Neugeborene in einen Behelfsstall (Scheune) ausgelagert, um den Infektionsdruck zu senken.

Bei Durchfallerkrankungen werden diätetische Maßnahmen (Absetzen der Vollmilch, Fütterung von Elektrolytlösungen, Tee und Haferschleim) durchgeführt.

3.1.3.2. Betrieb B

Das Problem Kälberdurchfall besteht hier seit 1984, im Jahr vor der Untersuchung mit steigender Tendenz. Auch hier wird eine Häufung von kranken Tieren in den Wintermonaten beobachtet.

Als prophylaktische Maßnahme werden bei hohen Geburtenzahlen die Neugeborenen in einen separaten Stall ausgelagert. Diätetische Maßnahmen entsprechen denen, die im Betrieb A vorgenommen werden.

3.1.3.3. Betrieb C

Durchfallbedingte Schwierigkeiten bei der Kälberaufzucht bestehen in diesem Bestand seit 1985; seit dieser Zeit verendeten einige Kälber in der ersten Lebenswoche. Auch hier wird eine Häufung von kranken Tieren in den Wintermonaten beobachtet.

Zur Prophylaxe werden alle Muttertiere mindestens einmal sechs bzw. zwei Wochen ante partum mit einer

kombinierten, inaktivierten Muttertierimpfstoffe (Behring, Marburg) geimpft.

Bei Durchfallerkrankungen werden diätetische Maßnahmen (siehe 3.1.3.1.) durchgeführt.

3.1.3.4. Betrieb D

Das Problem Kälberdurchfall besteht hier seit vielen Jahren; in dieser Zeit kam es immer wieder zu Todesfällen neugeborener Kälber.

Vor Beginn der Untersuchung wurde ein separater Kälberstall erbaut; seither hatten sich die durchfallbedingten Verluste zwar reduziert, aber nach wie vor kommt es zum Auftreten von Durchfallerkrankungen. Eine jahreszeitliche Häufung kann hier nicht beobachtet werden.

Als prophylaktische Maßnahme erfolgt die Kolostrumgabe spätestens nach vier Stunden; zusätzlich werden diätetische Maßnahmen (auch prophylaktisch) durchgeführt.

3.1.4. Probenentnahme

Mit der Probenentnahme wurde im Februar 1987 begonnen.

Als Ausgangspopulation dienten alle im Betrieb befindlichen Kälber bis zum Alter von sechs Wochen. Dazu kamen alle Kälber, die im Untersuchungszeitraum (Februar bis Oktober 1987) geboren wurden.

Als Entnahmeintervalle wurden festgelegt:

Kälber bis vier Wochen: alle drei bis vier Tage;

Kälber über vier Wochen: einmal wöchentlich;

Kälber mit Durchfall: täglich.

Durchfallerkrankungen wurden immer sofort durch den Tierbesitzer telefonisch mitgeteilt, so daß noch am

gleichen Tag eine Kotprobe gezogen werden konnte. Sämtliche Kotproben wurden als Einzelproben rektal mit jeweils neuem Einmalhandschuh entnommen und in 10 ml Plastikröhrchen (Greiner, Nürtingen) verpackt. Die Proben wurden sofort bei -40 C tiefgefroren und monatlich in einer Gefrierbox ins Institut für Medizinische Mikrobiologie, Infektions- und Seuchenmedizin der Tierärztlichen Fakultät der Universität München transportiert; hier wurden die Proben bei -70 C bis zur Untersuchung weitergelagert.

3.1.5. Untersuchung der Proben

3.1.5.1. Probenvorbereitung

Die Kotproben wurden im Verhältnis 1:5 mit PBS-Tween (0,15 M NaCl-0,05 M Phosphatpuffer, 0,05% Tween 20) verdünnt und mit einem Lab-Blender (Kleinschmidt, Hannover) suspendiert. Die Suspension wurde anschließend für 30 Minuten bei 2200xg zentrifugiert, wobei der Überstand als Ausgangsmaterial für den BRV- und den BCV-ELISA diente.

3.1.5.2. Rotavirusantigennachweis

Der Nachweis von Rotavirusantigen wurde nach der von Bachmann (1979) beschriebenen Methode, mit kleinen Modifikationen, durchgeführt.

Mit Anti-rotavirus-Globulinlösung beschichtete Immunolon-II-Mikrotiterplatten (Nunc, Wiesbaden) wurden mit NaCl-PP-Puffer mit 0,05% Tween 20 gewaschen. Im ersten Schritt wurden die Proben in log-2 Schritten verdünnt. Im zweiten Schritt wurde Anti-rotavirus-Globulin, gekoppelt mit

Meerrettichperoxidase, zugegeben und die Bindung im dritten Schritt nach Zugabe von Substrat (2,4 l 30%iges H_2O_2 und 1mg Tetramethylbenzidin (TMB) in 10ml Zitrat-Phosphatpuffer) sichtbar gemacht.

Vor den einzelnen Schritten wurde jeweils dreimal mit Puffer gewaschen und trockengeschüttelt, nach Zugabe der Kotproben und des Konjugats jeweils 1 Stunde bei 37 C unter Rotieren inkubiert. Die Reaktion des Substrats wurde nach 10 Minuten mit 0,2M Schwefelsäure gestoppt und die Extinktion mit einem Multiscan-Photometer (Flow Laboratories, Bonn) bei einer Wellenlänge von 450 nm gemessen. Als positiv wurden Proben mit einer Extinktion von $\geq 0,15$ gewertet.

3.1.5.3. Coronavirusantigennachweis

Der Nachweis von BCV-Antigen im Kot erfolgte nach der von Chen (1988) beschriebenen Technik.

Mit monoklonalen Antikörpern beschichtete Platten wurden statt dreimal, wie bei Rotavirusnachweis, jeweils viermal gewaschen und trockengeschüttelt. Im ersten Schritt wurden wieder die Kotproben in log 2 Schritten verdünnt. Im nächsten Schritt wurde ein Kaninchen-Anti-BCV-Immunserum, nach erneutem Waschen Anti-Kaninchen-IgG-Peroxidasekonjugat zugegeben. Die Sichtbarmachung der Reaktion erfolgte wie oben beschrieben. Als positiv wurden Proben mit einer Extinktion von $\geq 0,2$ gewertet.

3.1.6. Statistische Auswertung der Ergebnisse

Unterschiede zwischen den einzelnen Beständen wurden nach dem z-Test, der auf dem Vergleich zweier relativer Häufigkeiten auf Grundlage der Normalverteilung beruht, untersucht (Sachs, 1984).

Es wurden dabei die Messungen zu den Beständen A bis D jeweils paarweise verglichen und auf signifikante Abweichungen von der Normalverteilung untersucht. Die aus den Messwerten errechneten Teststatistiken z werden mit den Werten aus der Normalverteilungstabelle verglichen.

3.2. Ergebnisse

Insgesamt wurden von 98 Kälbern 1434 Proben entnommen. Die Kälber verteilen sich relativ gleichmäßig auf vier Betriebe, das heißt auf den kleinsten Betrieb kommen 21 Kälber und auf den größten Betrieb 28 Kälber. Die Zahl der in den einzelnen Beständen entnommenen Proben liegt auch ungefähr auf dem gleichen Niveau, dagegen variiert die Zahl der Kälber mit Durchfall relativ stark, von Betrieb A mit nur drei Kälbern bis zu Betrieb C mit zehn Kälbern. In Tabelle 3 sind die genannten Daten nach Betrieben aufgeschlüsselt dargestellt.

Von den 1434 untersuchten Proben konnte in 146 Rotavirus nachgewiesen werden. Betrieb A hatte mit 6,23% den geringsten Anteil Rotavirus-positiver Proben, Betrieb B mit 15,44% den höchsten Anteil. Nimmt man die Impfbestände A und C zusammen, so liegen sie mit 7,76% Rotavirus-positiver Proben signifikant (99,95) unter den Nicht-Impfbeständen B und D, bei denen in 13,46% der Proben Rotavirus nachgewiesen wurde. Die deutlichste Signifikanz ergibt sich im Vergleich der Werte von Bestand A und B (99,99%), sowie der Werte von Bestand A und D (99,3). Keine Signifikanz der Unterschiede ergibt sich aus dem Vergleich der Impfbestände untereinander, ebenso nicht signifikant sind die Unterschiede der Nichtimpfbestände untereinander. Aus Tabelle 4 sowie Abbildung 1 wird die Verteilung ersichtlich, außerdem ist der Durchschnittswert an Rotavirus-positiven Proben aller Bestände angegeben, um eine Zuordnung zu ermöglichen. Die Zahl der Kälber, in deren Kotproben Rotavirus nachgewiesen werden konnte, variierte relativ stark; so waren es in Betrieb D nur 37,5% der Kälber, die nie

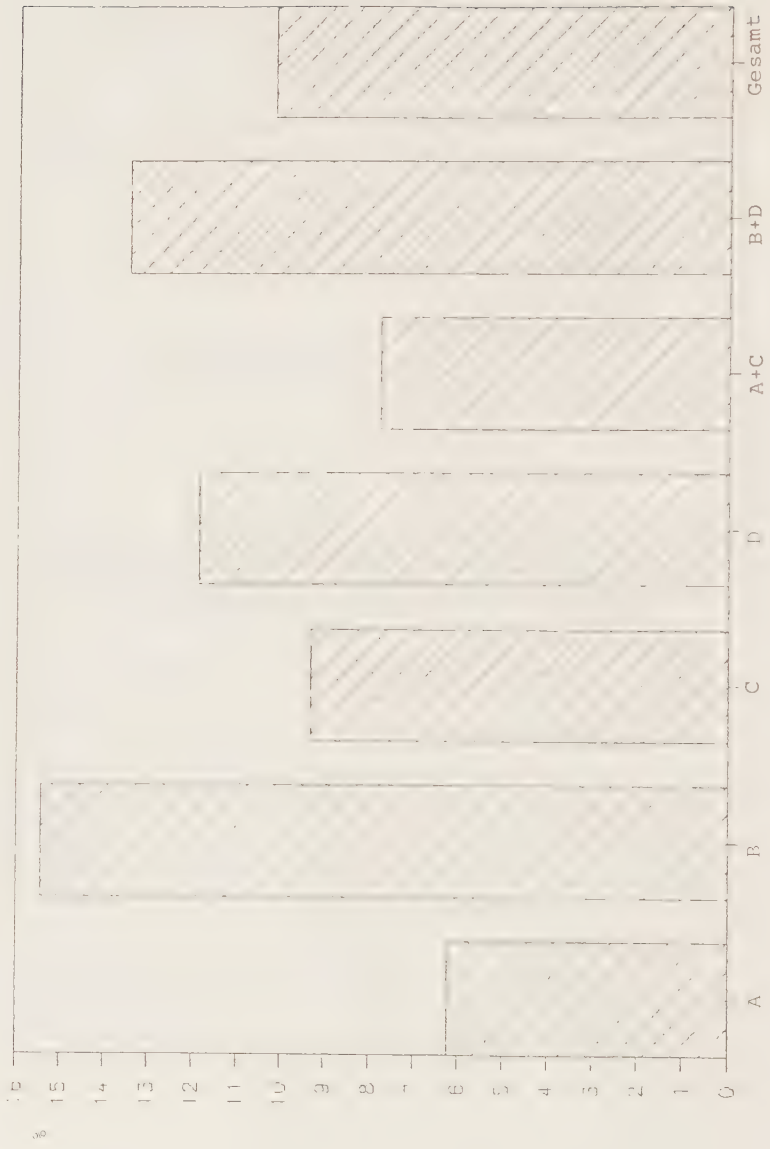
Tabelle 3: Gesamtzahl der in den einzelnen Beständen untersuchten Tiere und Proben sowie die Zahl der Proben von durchfallkranken Kälbern.

Bestand:	A	B	C	D
Gesamtzahl der untersuchten Tiere	25	21	28	24
Gesamtzahl der untersuchten Proben	417	272	408	337
Gesamtzahl der Tiere mit Durchfall	3	7	10	5

Tabelle 4: Verteilung der Kotproben, in denen Rotavirus nachgewiesen wurde, in den einzelnen Beständen sowie zusammengefaßt in Impf - und Nichtimpfbeständen.

Bestand	Probenzahl	Rotavirus-positive Proben (in Prozent)
A	417	6,23
B	272	15,44
C	408	9,31
D	337	11,87
A+C	825	7,76
B+D	609	13,46
Gesamt	1434	10,18

Abbildung 1: Anteil Rotavirus-positiver Proben an der Gesamtprobenzahl (in %) nach Beständen aufgegliedert und im Vergleich Impf- und Nichtimpfbestände.



Rotavirus ausschieden, im Vergleich zu Betrieb B, in dem es 57,1% der Kälber ohne Rotavirusausscheidung gab.

Die Zahl der Kälber, die nur einmal Rotavirus ausschieden, lag in den Betrieben C, D und A zwischen 21,4% und 28%, dagegen schied in Betrieb B nur ein Kalb (4,8%) nur einmal Rotavirus aus.

Die prozentuale Verteilung der Kälber, die zwei- oder dreimal Rotavirus ausschieden, war in allen Beständen ähnlich. Wesentlich größer waren die Unterschiede zwischen den Kälbern, die viermal und öfter Rotavirus ausschieden. Hier lagen die Impfbestände A mit 4% und C mit 14,3% wesentlich unter den Nichtimpfbeständen B mit 19% und D mit 25%. Die genauen Daten sind in Tabelle 5 zahlenmäßig und in Abbildung 2 graphisch dargestellt, wobei keine Ausscheidung, ein-, zwei- und dreimalige Ausscheidung jeweils getrennt dargestellt werden; viermalige und noch häufigere Ausscheidungen sind in einer Zahl zusammengefaßt.

Zwischen den einzelnen Rotavirusausscheidungen liegen Intervalle unterschiedlicher Dauer. Die Proben, die in dieser Zeit gezogen wurden, zeigten keine Rotavirusausscheidung.

Mit Ausnahme von zwei Kälbern (Betrieb D), die allerdings erst im August bzw. im Oktober geboren worden waren, schieden alle Kälber Rotavirus in Intervallen aus. Die ausscheidungsfreie Zeit schwankte dabei zwischen 8 und 118 Tagen, wobei sie in der Regel vier bis fünf Wochen betrug.

Die Ausscheidungsdauer lag dabei zwischen zwei Tagen und dreizehn Tagen.

Ein Unterschied hinsichtlich Ausscheidungsdauer und Ausscheidungsintervallen zwischen Kälbern ohne Durchfall und Kälbern mit Durchfall konnte nicht festgestellt

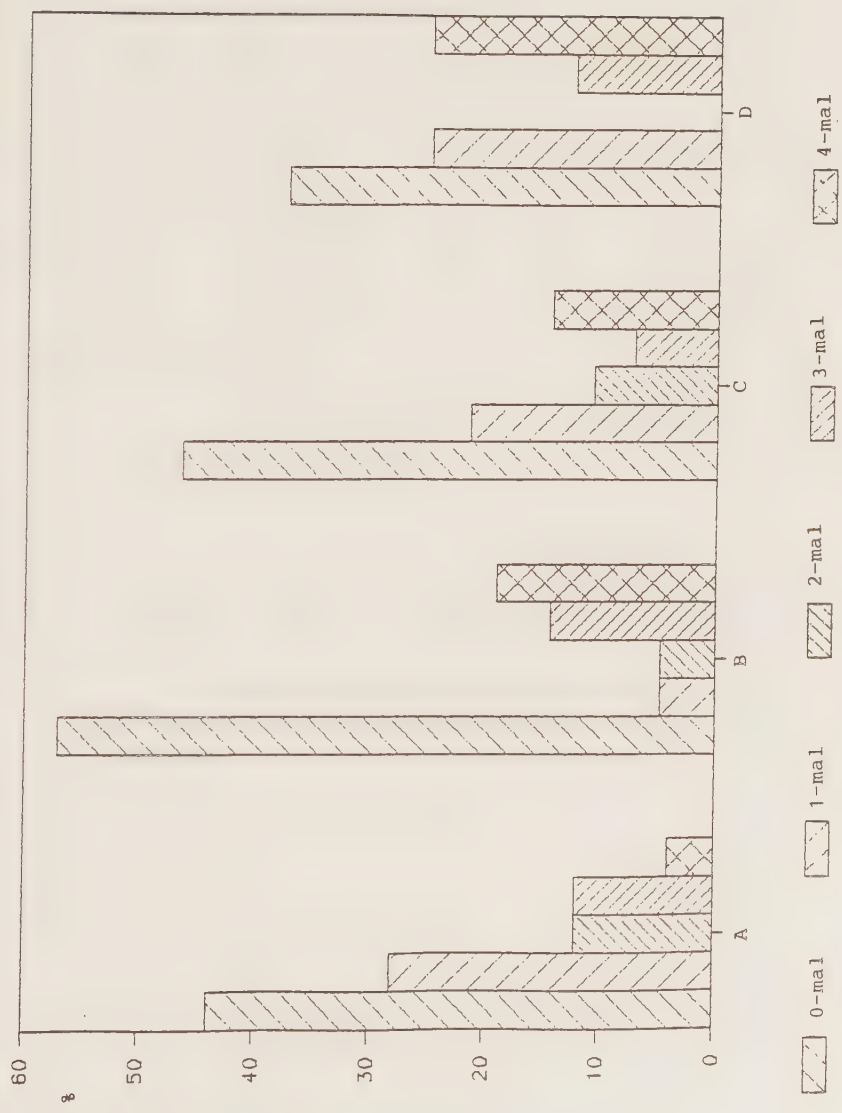
Tabelle 5: Häufigkeit der Ausscheidung von Rotaviren im Kot der Kälber in den einzelnen Betrieben (Angaben in Prozent)

Bestand	Häufigkeit der Ausscheidung von Rotavirus				
	0x	1x	2x	3x	>=4x
A	44	28	12	12	4
B	57,1	4,8	4,8	14,3	19
C	46,5	21,4	10,7	7,1	14,3
D	37,5	25	0	12,5	25

Tabelle 6: Häufigkeit der Ausscheidung von Rotavirus (Angaben in Prozent) in den einzelnen Beständen in Abhängigkeit von der Jahreszeit

	Bestand			
	A	B	C	D
März	18,2	36,7	29,7	7,4
April	9,7	0	20,7	0
Mai	1,9	0	4,3	2,2
Juni	12,5	27,3	13,2	29,5
Juli	0	38	2,6	12,5
August	1,6	7,9	2,2	27,3
September	1,7	1,8	3,1	4,8
Oktober	0	5,3	4,7	6,8

Abbildung 2: Ausscheidungshäufigkeit von BRV nach Beständen gegliedert und in Prozentzahlen wiedergegeben.



werden. Der Anteil rotaviruspositiver Proben (bezogen auf die Gesamtprobenzahl des jeweiligen Monats) lag in den Monaten März (23,2%), Juni (18,9%) und Juli (15,8%) am höchsten; alle anderen Monate lagen zwischen 10,1% (April) und 2,5% (Mai).

Die höchsten Schwankungen waren in Betrieb B mit 0% Anteil im April bis 38% Anteil Rotavirus-positiver Proben im Juli zu verzeichnen. Die geringsten Schwankungen zeigte Betrieb A mit 0% im Juli und 18,2% im März, die beiden anderen Betriebe lagen dazwischen.

Die Tabellen 6 und 7 zeigen die genauen Prozentangaben auf. In den Abbildungen 3 und 4 sind die monatlichen Anteile Rotavirus-positiver Proben graphisch dargestellt. Tabelle 6 und Abbildung 3 zeigen dabei die Aufschlüsselung nach einzelnen Betrieben, in Tabelle 7 und Abbildung 4 sind jeweils Impfbestände und Nichtimpfbestände zusammengefaßt.

Bovines Coronavirus konnte nur in 12 der 1434 Proben nachgewiesen werden.

In Betrieb A gelang der Nachweis in sechs Proben, in Betrieb B in einer Probe und in Betrieb D in fünf Proben. Bei Betrieb C zeigte keine der Proben BCV.

Da der Nachweis von BCV im Durchschnitt bei 0,84% lag, wurde auf eine tabellarische und bildliche Darstellung verzichtet.

Obwohl der Anteil an BCV-positiven Proben sehr gering war, lag der Anteil an den Durchfallerkrankungen bei 12,28%.

Bei dem einzigen Kalb, das verendete (Betrieb A), wurde sowohl Rota- als auch Coronavirus nachgewiesen.

Legt man die durchfallkranken Kälber zugrunde, so kann man feststellen, daß Rota- und Coronavirus oder beide zusammen sehr häufig am Durchfallgeschehen beteiligt

Abbildung 3: Jahreszeitliche Verteilung der Rotavirus-positiven Proben (in %) monatsbezogen und nach Beständen gegliedert.

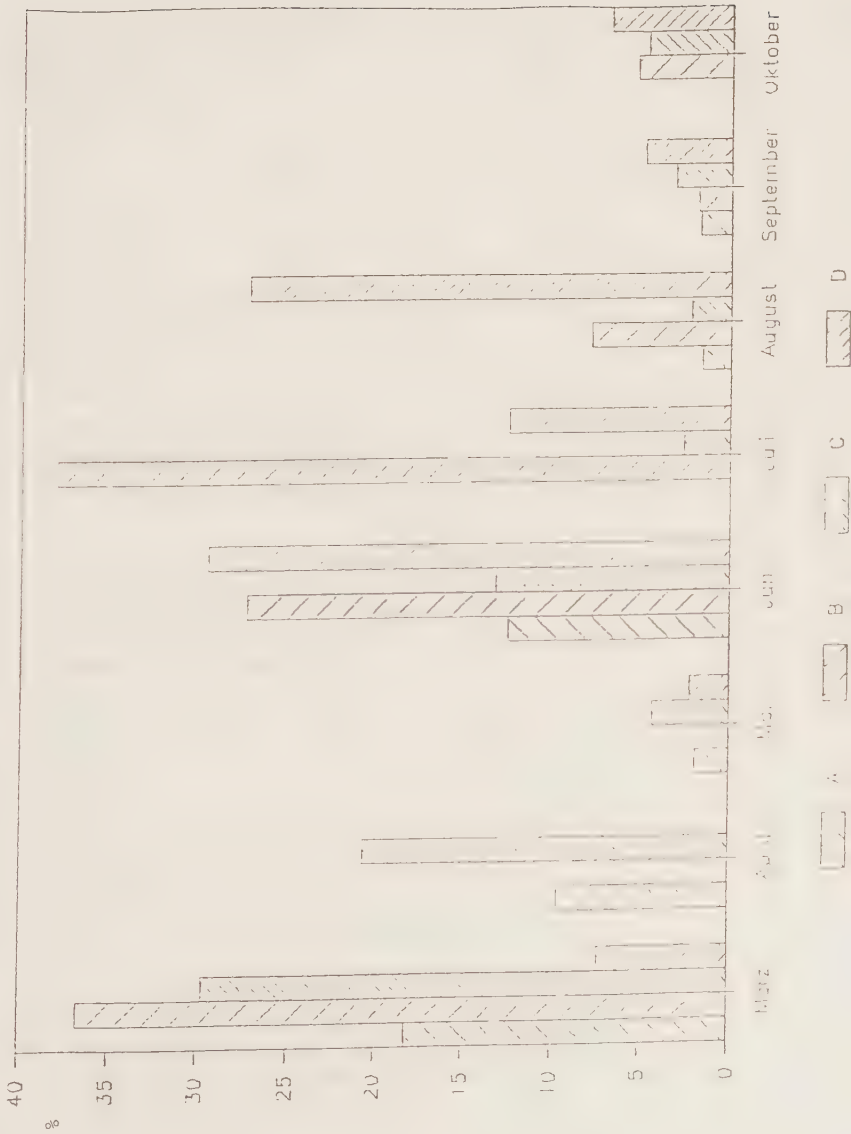


Abbildung 4: Jahreszeitliche Verteilung der Rotavirus-positiven Proben monatsbezogen (in %) und nach Impf- und Nichtimpfbeständen gegliedert.

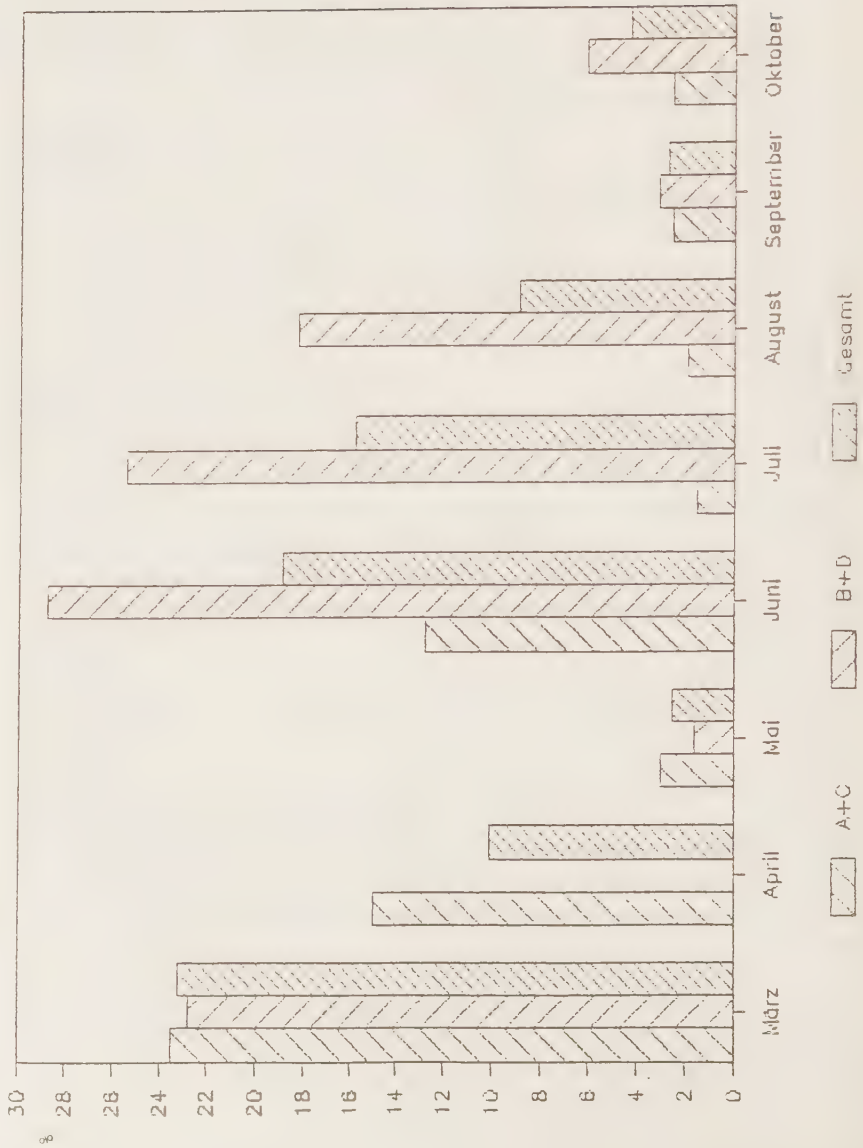


Tabelle 7: Jahrezzeitliche Verteilung der Rotavirus - positiven Proben (Angaben in Prozent) monatsbezogen und nach Impf- und Nichtimpfständen gegliedert.

	Bestände		
	A+C	B+D	Gesamt
März	23,5	22,8	23,2
April	15	0	10,1
Mai	3	1,6	2,5
Juni	12,8	28,8	18,9
Juli	1,5	25,5	15,8
August	1,9	18,3	8,9
September	2,5	3,1	2,7
Oktober	2,5	6,1	4,3

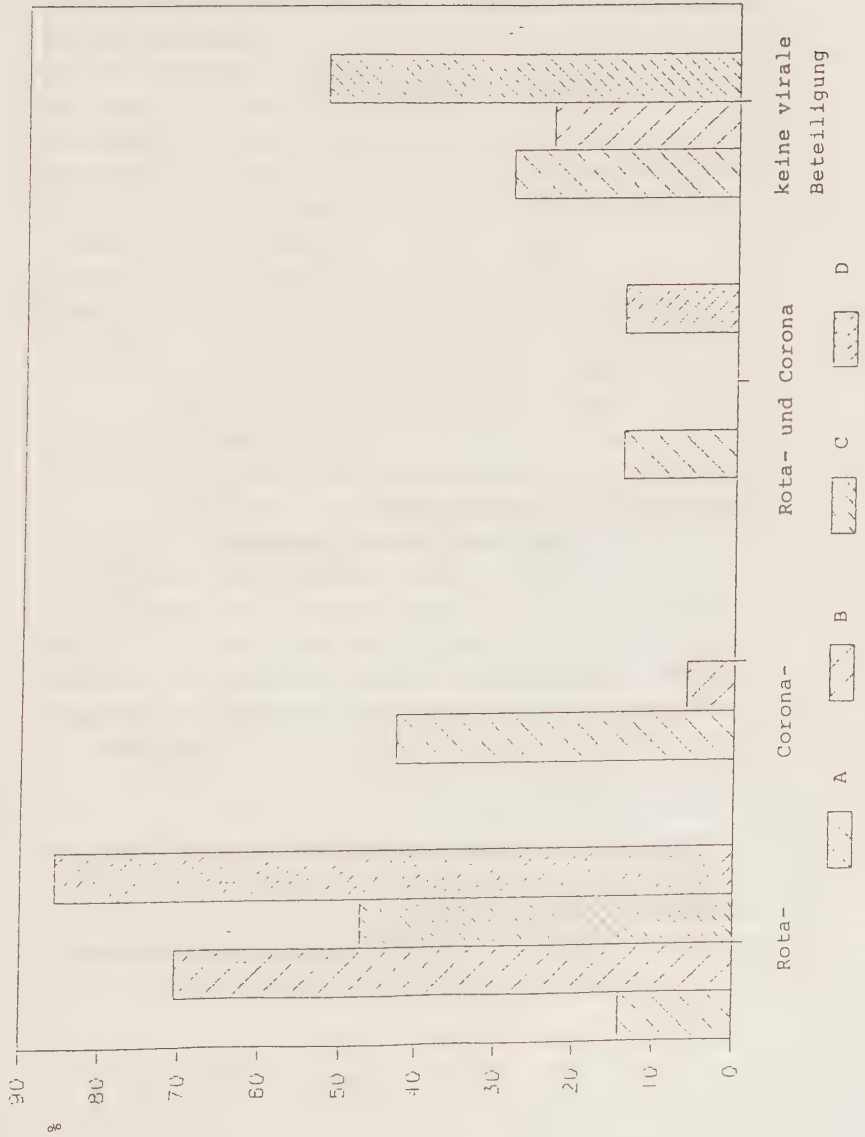
Tabelle 8: Beteiligung von Rota - und Coronaviren am Durchfallgeschehen in den einzelnen Beständen (Angaben in Prozent).

	Bestand			
	A	B	C	D
Rota	14,3	70,6	47,4	85,7
Corona	42,8	5,9	0	0
Rota- und Corona	14,3	0	0	14,3
keine virale Beteiligung	28,6	23,5	52,6	0

- . -

waren. In Betrieb D wurden bei jedem durchfallkranken Kalb Rotaviren nachgewiesen. Betrieb A und B haben zu einem Viertel und Betrieb C zur Hälfte keine virale Beteiligung an den Durchfallerkrankungen. Bei Betrieb A fällt die hohe BCV-Beteiligung mit 42,8% auf. Die genauen Daten sind in Tabelle 8 festgehalten und in Abbildung 5 graphisch dargestellt.

Abbildung 5: Viraler Anteil am Durchfallgeschehen nach Beständen gegliedert.
(in Prozent)



4. Besprechung der Ergebnisse

Obwohl alle vier Betriebe in den letzten Jahren mit großen Durchfallproblemen bei Kälbern zu kämpfen hatten, konnte im Versuchszeitraum (Februar bis Oktober 1987) nur noch bei einem Viertel der Kälber Durchfall festgestellt werden. Verluste traten nur noch bei einem Betrieb auf; ein Kalb verendete im Alter von 14 Tagen. In Betrieb A und C wurde eine inaktivierte, kombinierte Muttertiervakzine eingesetzt, wobei in Betrieb A sehr genau darauf geachtet wurde, daß alle Kühe und Färsen sechs und zwei Wochen ante partum geimpft wurden, sowie die Kälber sofort nach der Geburt die Möglichkeit zur Kolostrumaufnahme erhielten.

Die Erkrankungsrate war mit 12% in Betrieb A am geringsten und mit 36% in Betrieb C am höchsten; Betrieb B mit 33% und Betrieb D mit 21% lagen dazwischen.

Im Vergleich der Impfbestände A und C mit 25%

Durchfallkälbern mit den Nichtimpfbeständen B und D mit 27% läßt sich kein sichtbarer Unterschied feststellen.

Die Werte von ca. 25% Erkrankungsrate decken sich mit den Werten, die andere Autoren in Feldversuchen nach Einsatz von Muttertiervakzine gefunden hatten. Kunz (1982) konnte nach Vakzination eine Senkung der Durchfallerkrankungen von über 80% auf 15% bis 36% erreichen. Zu ähnlichen Ergebnissen kommen auch Bachmann et al. (1985), die in einer neueren Untersuchung von 60 bzw. 109 Rinderbeständen in Baden-Württemberg nach Vakzinierung noch bei 22,4% bzw. 26,7% der Kälber Durchfallerkrankungen feststellten.

Die Reduzierung des Durchfallproblems im gleichen Maße in den Nichtimpfbeständen wie bei den Impfbeständen läßt

sich nur durch das verbesserte Management erklären. Durch die konstante Probenentnahme wurde eine ständige tierärztliche Kontrolle der Kälber gewährleistet. Möglichst baldige Kolostrumgabe, Verteilung des Kolostrums auf mehr als zwei Mahlzeiten, Ausgliederung von Neugeborenen aus dem Muttertierstall und Desinfektion der Kälberboxen haben sicher zur Reduzierung des Durchfallproblems beigetragen.

Welchen Anteil die Vakzinierung in den Impfbeständen an der Reduzierung des Durchfallproblems und welchen Einfluß das durch die Untersuchung bedingte verbesserte Management hat, läßt sich nicht bestimmen.

Beim Vergleich der Kälber, die Rotavirus ausschieden, liegt die Differenz von Betrieb A mit 6,23% und Betrieb B mit 15,44% relativ weit auseinander. Auch der Unterschied von Impfbeständen (7,76%) und Nichtimpfbeständen (13,46%) ist mit 99,95%iger Sicherheit signifikant. Dagegen fällt der Vergleich der in den einzelnen Beständen aufgetretenen Durchfallerkrankungen nicht sehr deutlich aus. McNulty und Logan (1983) fanden bei einer Untersuchung einer geschlossenen Herde (57 Kälber), daß bei 79% der Kälber Rotavirusausscheidung festgestellt werden konnte.

De Leeuw et al. (1980) fanden dagegen nur bei 40% der Kälber Rotavirusausscheidung; dieses Ergebnis entspricht ungefähr den hier gefundenen Werten: Im Durchschnitt der vier Betriebe lag die Ausscheidungsquote bei 54%, wobei die Rate von 43% (Betrieb B) bis 62,5% (Betrieb D) reicht.

Läßt man die Ausscheidungshäufigkeit der einzelnen Kälber außer Acht, so kann man in Bezug auf die Rotavirusausscheidung keinen Unterschied zwischen Impfbeständen und Nichtimpfbeständen feststellen; dagegen

liegt die Zahl der Kälber, die häufiger (viermal und mehr) Rotavirus ausschieden in Nichtimpfbeständen mit 22% deutlich höher als in Impfbeständen mit 9%.

Der Unterschied zwischen Impf- und Nichtimpfbeständen bei der Zahl der Kälber, die viermal und öfter Rotavirus ausschieden, ist sicherlich als positive Auswirkung der Muttertiervakzine zu werten; das heißt es läßt sich zwar eine Rotavirusausscheidung nicht ganz verhindern, jedoch ist eine Verkürzung der Ausscheidungsdauer zu erreichen. Alle Rotavirus-ausscheidenden Kälber schieden in Intervallen aus, das heißt es lagen Rotavirus-ausscheidungsfreie Zeiten, die von 8 bis 118 Tagen reichten, dazwischen. Die Zeitspanne, in der BRV ausgeschieden wurde, betrug zwei Tage bis acht Tage. Nur zwei Kälber (Betrieb D), die allerdings erst im August bzw. Oktober geboren wurden, schieden Rotavirus nicht in Intervallen aus. Die vor dem Versuchszeitraum von den Tierbesitzern festgestellte Häufung von Erkrankungen in den Wintermonaten konnte nicht bestätigt werden.

Es gibt zwei Ausscheidungsspitzen, das erste Mal im März mit 23,2% rotaviruspositiver Proben und das zweite Mal im Juni/Juli mit 18,9% bzw. 15,8%.

Auffallend ist die in Betrieb A im Vergleich zu den anderen Betrieben geringe Schwankungsbreite von 0% bis 18,2% Rotavirusausscheidung im Gegensatz zu 0% bis 38% in Betrieb B.

Gleichmäßig über das Jahr verteilte Abkalberaten und nicht mehr wie bisher hohe Geburtenzahlen in den Wintermonaten könnten eine Erklärung dafür sein, daß sich die Krankheits- und Rotavirusausscheidungsraten genauso über das ganze Jahr verteilen. Das heißt das gehäufte Auftreten von Durchfallerkrankungen wäre nicht

jahreszeitlich bedingt, sondern vielmehr von der Zahl der Neugeborenen und dem dadurch bedingten Infektionsdruck abhängig. Die geringe Anzahl von Proben mit BCV-Ausscheidung läßt sich nicht erklären; möglich wäre, daß es sich bei den vier Betrieben zufällig um solche mit geringer BCV-Ausscheidung handelt.

Trotz der geringen Zahl von nur 12 positiven BCV-Proben waren sie siebenmal (=58%) an Durchfall beteiligt. Insgesamt fällt auf, daß die virale Beteiligung an den Durchfällen sehr hoch ist. Von 47,4% Rotavirusbeteiligung (Betrieb C) bis zu 100%iger Rotavirusbeteiligung bei Betrieb D.

Besonders auffallend ist der hohe Prozentsatz von 42,8% Coronavirusbeteiligung an den Durchfallerkrankungen in Betrieb A.

Coronaviren waren zusammen mit Rotaviren auch beim einzigen Kalb, das verendete (Betrieb A), beteiligt. Obwohl nur in 0,84% der 1434 Proben BCV nachgewiesen werden konnte, war ihr Anteil an den Durchfallerkrankungen mit 12,28% wesentlich beachtlicher und entspricht ungefähr den Werten, die auch Marsolais et al. (1978) und Baljer et al. (1987) gefunden hatten.

5. Zusammenfassung

1434 Kotproben wurden im Zeitraum Februar bis Oktober 1987 in vier ungefähr gleich großen Betrieben in Baden-Württemberg gezogen. In zwei Betrieben wurden die Kühe mit Muttertierimpfung geimpft. Die Proben stammten von 98 Kälbern, die von Januar bis Oktober 1987 geboren worden waren. Vor Beginn der Untersuchung bestanden in allen vier Betrieben große Durchfallprobleme; die Morbidität lag bei ca. 80%. Im Versuchszeitraum erkrankte nur ein Viertel der Kälber und lediglich ein Kalb (1%) verendete an Durchfall. Dieser Rückgang der Morbiditätsraten ist wahrscheinlich durch die verbesserte Betreuung der Kälber während der Untersuchung bedingt.

Eine Häufung an Durchfallerkrankungen in der kalten Jahreszeit konnte nicht festgestellt werden.

In 146 der 1434 Kotproben (=10,18%) konnte Rotavirus, dagegen nur in 12 der Proben (=0,84%) Coronavirus nachgewiesen werden. An den Durchfallerkrankungen waren zwischen 47,4% (Betrieb C) und 100% (Betrieb D) Rota- und Coronaviren oder beide zusammen beteiligt. Beim einzigen Kalb, das verendete, wurde Rota- und Coronavirus nachgewiesen. Keines der Kälber, die Rotavirus ausschieden, schied kontinuierlich aus, sondern in Intervallen mit 8 bis 118 ausscheidungsfreien Tagen. Unabhängig von klinischen Erscheinungen besteht jedoch ein signifikanter Unterschied in der Rotavirus-Ausscheidungshäufigkeit. Hier liegen die Impfbestände (7,76%) deutlich unter den Beständen, in denen keine Muttertierimpfung durchgeführt wird (13,46%).

6. Summary

On the epidemiology of bovine rota - and coronaviruses.

A total of 1434 fecal samples from four farms of similar sizes were tested for rota- and coronaviral antigens from february to october 1987. Samples were taken from 98 calves born between january and october 1987. in previous years all farms had problems with neonatal diarrheal disease (morbidity rates about 80%) and in two farms the dams were vaccinated to reduce these problems. During the study only 25% of the calves in all farms suffered from diarrheal disease and only one calf died. Reduced morbidity rates were probably due to the improved management of calf rearing caused by the study itself. No increased morbidity was seen during the cold season. Rotavirus was detected in 146 (= 10.18%) fecal samples, whereas coronavirus was detected in 12 samples (=0.84%) only. Frequency of rota- or coronavirus or mixed infections of both in samples from calves with diarrhea varied from 47.4% (farm C)to 100% (farm D). A mixed infection was also detected in the calf that died from diarrhea. Rotavirus was always shed in intervals, where for 8 to 118 days no rotavirus antigen was detected in the feces.

Frequency of rotavirus shedding was significantly lower in farms with dam vaccination (7.76%) than in farms that did not use dam vaccination (13.46%).

7. Literaturverzeichnis

ACRES S.D., L.A. BABIUK, 1978:: Studies on Rotaviral Antibody in Bovine Serum and Lacteal Secretions, Using Radioimmunoassay.

J. Amer. Vet. Med. Ass. 173, 555-559.

ACRES S.D., O.M. RADOSTITS, 1976: The Efficacy of a Modified live Reo-like Virus Vaccine and an E.coli Bacterin for Prevention of acute undifferentiated Diarrhea of Beef Calves.

Can. Vet. J. 17, 197-212.

BACHMANN P.A., 1979: Rotavirusnachweis in Faeces: Erfahrungen mit dem Enzyme Linked Immunosorbent Assay (ELISA).

Zbl. Vet. Med. B 26, 835-842.

BACHMANN P.A., 1980: Ist eine kombinierte Prophylaxe beim neugeborenen Kalb gegen Darminfektionen gegen E.coli und Rotaviren möglich?.

Prakt. Tierarzt 61, 718-720.

BACHMANN P.A., 1983: Muttertierschutzimpfung gegen lokale Infektionskrankheiten.

Fortschr. Vet. Med. 37, 40-54.

BACHMANN P.A., R.G.HESS, W.EICHHORN, 1982: Aktive Muttertierschutzimpfung: Passive Immunisierung von Neugeborenen.

Tierärztl. Umschau 37, 684-703.

BACHMANN P.A., W.EICHHORN, G.BALJER, H.WOERNLE, J.WIEDA, P.PLANK, W. BECKER, A.MAYR, 1985: Muttertierimpfungen gegen Diarrhoen bei Kälbern: Ergebnisse eines Feldversuches.

Tierärztl. Umschau, 40, 8-14.

BALJER G., 1977: Erfahrungen mit der oralen Schutzimpfung von Kälbern gegen Escherichia coli.

Tierärztl. Umschau 32, 527-.

BALJER, G., W. EICHHORN, E. GÖBEL, M. WOLF, P.A. BACHMANN, 1987: Vorkommen und Verbreitung wichtiger Durchfallerreger bei neugeborenen Kälbern in Süddeutschland im Zeitraum 1984 bis 1986.

Tierärztl. Umschau 42, 56-65.

BASTARDO J.W., J.L. MCKIMM-BRESCHKIN, S. SONZA, L.D. MERCER, I.H. HOLMES, 1981: Preparation and characterization of antisera to electrophoretically purified SA-11 virus polypeptides.

Infect. Immun. 34, 641-647.

BATTAGLIA, M., N. PASSARANI, A.D. MATTEO, G. GERNA, 1987:
Human enteric coronavirus: further characterization and
immunoblotting of viral proteins.
J. Infect. Dis. 155, 140-143.

BISHOP R.F., G.P. DAVIDSON, I.H. HOLMES, B.J. RUCK, 1974:
Detection of a new virus by electron microscopy of faecal
extracts from children with acute gastroenteritis.
Lancet i, 149-151.

BOHL A.H., R.K.P. GUPTKA, M.V.F. OLQUIN, L.J. SAIF, 1972:
Antibody responses in serum, colostrum and milk of swine
after infection or vaccination with transmissible
gastroenteritis virus.
Infect. Immun. 6, 289-301.

BOHL E.H., L.J. SAIF, K.W. THEIL, A.G. AGNES, R.F. CROSS,
1982: Porcine pararotavirus: detection, differentiation
from rotavirus, and pathogenesis in gnotobiotic pigs.
J. clin. Microbiol. 15, 312-319.

BRIDGER J.C., J.F. BROWN, 1984: Antigenic and pathogenic
relationships of three bovine rotaviruses and a porcine
rotavirus.
J. Gen. Virol. 65, 1151-1158.

BRIDGER J.C., G.N. WOODE, 1975: Neonatal calf diarrhea: identification of a reovirus-like (rotavirus) agent in faeces by immunofluorescence and immune electron microscopy.

Br. Vet. J. 131, 528-535.

BRUSSOW H., S. MARC-MARTIN, W. EICHHORN, J. SIDOTI, V. FRYDER, 1987: Characterization of a Second Bovine Rotavirus Serotype.

Arch. Virol. 94, 29-41.

BÜRKI F., 1984: Pathogenesis and Immunoprophylaxis of Bovine Rotavirus Infection.

Acta Microbiol. Hung. 31, 213-221.

BÜRKI F., G. SCHUSSER, H. SZEKELY, 1983: Clinical, virological and serological evaluation of the efficacy of peroral live rotavirus vaccination in calves kept under normal husbandry conditions.

Zbl. Vet. Med. B 30, 237-250.

CHEN H.-C., 1988: Nachweis von bovinem Coronavirus - Antigen mittels Elisa und vergleichende Untersuchungen mit anderen Nachweisverfahren.

Vet. Med. Diss., München.

CROUCH C.F., S.D. ACRES, 1984: Prevalence of Rotavirus and Coronavirus Antigens in the Feces of Normal Cows.

Can.J.Comp.Med. 48, 340-342.

CROUCH, C.F., T.J.G. RAYBOULD, S.D. ACRES, 1984:
Monoclonal antibody capture enzyme-linked immunosorbent
assay for detection of bovine enteric coronavirus.
J. clin. Microbiol. 19, 388-393.

CZERNY, C.P., 1985: Zellkulturadaptierung des humanen
Coronavirus OC-43 und dessen epizootiologische Bedeutung.
Diss. Vet. Med., München.

DEA S., M.E. BEGIN, D. ARCHAMBAULT, M.A.S.Y. ELAZHARY,
R.S. ROY, 1985: Distinct Rotaviruses Isolated from
Asymptomatic Calves.
Cornell Vet. 75, 307-318.

DE LEEUW P.W., D.J. ELLENS, P.J. STRAVER, J.A.M. VAN
BALKEN, A. MOERMAN, T. BAANVINGER, 1980: Rotavirus
Infections in Calves in Dairy Herds.
Vet. Science 29, 135-141.

DE LEEUW P.W., D.J. ELLENS, F.P. TALMON, G.N. ZIMMER, R.
KOMMERIJ, 1980: Rotavirus infections in calves: efficacy
of oral vaccination in endemically infected herds.
Res. Vet. Sci. 29, 142-147.

DIRKSEN G., P.A. BACHMANN, 1977: Zum Vorkommen von Rota-
und Coronavirus als Ursache von Kälberdiarrhoe in der BR
Deutschland.
Berl. Münch. Tierärztl. Wschr. 90, 475-477.

EICHHORN W., 1981: Verlängerung der Ausscheidung von Rotavirusantikörpern mit der Milch frischlaktierender Kühe durch parenterale Vakzination.
Vet. Med. Diss. München, 1981.

EICHHORN W., P.A. BACHMANN, 1983: Muttertierimpfung beim Rind.
Tierärztl. Umschau 38, 790-794.

EICHHORN W., M. KRAUß, P.A. BACHMANN, A. MAYR, 1985:
Vorkommen und Verbreitung atypischer Rotaviren bei Kälbern in Deutschland.
Tierärztl. Umschau 40, 435-436.

ELLENS, D.J., J.A.M.V. BALKEN, P.D. LEEUW, 1978:
Diagnosis of bovine coronavirus infections with haemadsorption-elution-haemagglutination assay (HEHA) and with enzyme linked immunosorbent assay (ELISA).
Proc. 2nd Int. Symp. Neonatal Diarrhoea, 321-330.

ERICSON B.L., D.Y. GRAHAM, B.B. MASON, M.K. ESTES, 1982:
Identification, Synthesis, and Modification of Simian Rotavirus SA 11 Polypeptides in Infected Cells.
J. Virol. 42, 825-839.

ESPEJO R., P. ROMERO, E. CALDERON, N. GONZALEZ, 1978:
Diagnosis of rotavirus using viral RNA electrophoresis.
Bol. Med. Hosp. Infant. Mex. 35, 323-331.

ESTES M.K., D.Y. GRAHAM, D.H. DIMITROV, 1984: The molecular epidemiology of rotavirus gastroenteritis. Prog. Med. Virol. 29, 1-22.

ESTES M.K., E.L. PALMER, J.F. OBIJESKI, 1983: Rotaviruses: a review. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 105, 123-184.

FLEWETT T.H., A.S. BRYDEN, H. DAVIES, G.N. WOODE, J.C. BRIDGER, J.M. DERRICK, 1974: Relation between viruses from acute gastroenteritis of children and newborn calves. Lancet ii, 1497.

GARWES, D.J., 1982: Coronavirus in animals. in: Virus infections of the gastrointestinal tract, TYRRELL, D.A.J., KAPIKIAN, A.Z., Eds., Marcel Dekker, New York, Basel.

GUY, J.S., D.A. BRIAN, 1979: Bovine coronavirus genome. J. Virol. 29, 293-300.

HESS R.G., P.A. BACHMANN, G. BALJER, A. MAYR, A. POSPISCHIL, G. SCHMID, 1984: Synergism in experimental mixed infections of newborn colostrum-deprived calves with bovine rotavirus and enterotoxigenic E.coli (ETEC). Zbl.Vet.Med. B 31, 585-596.

HESS R.G., P.A. BACHMANN, W. EICHHORN, K. FRAHM, P. PLANK, 1981: Stimulierung der laktogenen Immunität des Rindes gegenüber Rotavirusinfektionen. Fortschr. Vet. Med. 35, 103-108.

HESS R.G., T.A. BACHMANN, 1983: Bildung und Verweildauer lokaler Darmantikörper nach experimenteller Rotavirusinfektion von neugeborenen Kälbern. Fortschr. Vet. Med. 37, 55-61.

KALICA A.R., H.W. GREENBERG, J. FLORES, M.M. SERENO, A.Z. KAPIKIAN, R.M. CHANOCK, 1981: Genes of human (strain Wa) and bovine (strain UK) rotaviruses that code for neutralization and subgroup antigens. Virology 112, 385-390.

KAPIKIAN A.Z., W.L. CLINE, H.B. GREENBERG, R.G. WYATT, A.R. KALICA, C.E. BANKS, H.D. JAMES, J. FLORES, R.M. CHANOCK, 1981: Antigenic characterization of human and animal rotaviruses by immune adherence hemagglutination assay (IAHA): evidence for distinctness of IAHA and neutralization antigens. Infect. Immun. 33, 415-425.

KAPIKIAN A.Z., S.K. LAM, C.R. MADELEY, M. MATHAN, P.K. MIDDLETON, G.N. WOODE, 1980: Rotavirus and other viral diarrhoeas. Bull. WHO 58, 183-198.

KIM J.W., F.W. SCHMIDT, 1983: Zur Frage der Absorption von kolostralen Immunglobulinen durch das Kalb. Dtsch. tierärztl. Wschr. 90, 283-286.

KUNZ W., 1982: Muttertierimpfung mit einer Rota-Corona-Vakzine zur Bekämpfung des Kälberdurchfalles. - Klinische Erfahrungen. Tierärztl. Umschau 37, 505-506.

LOURENCO M.H., J.C. NICOLAS, J. COHEN, R. SCHERRER, F. BRICOUT, 1981: Study of human rotavirus genome by electrophoresis: attempt of classification among strains isolated in France. Ann. Virol. 132, 161-173.

LU CHENGPING, 1985: Isolierung, Charakterisierung und Epizootiologie boviner Coronaviren. Diss. Med. vet., München

MARSOLAIS, G., R. ASSAF, C. MONTPETIT, P. MAROIS, 1978: Diagnosis of viral agents associated with neonatal calf diarrhea. Canad. J. comp. Med. 42, 168-171.

MATTHEWS, R.E.F., 1982: Classification and nomenclature of viruses. Intervirology 17, 1-199.

MCCRAE M.A., J.G. MCCORQUODALE, 1982: Molecular biology of rotaviruses. II Identification of the protein coding assignments of calf rotavirus genome RNA species. Virology 117, 435-443.

MCNULTY M.S., G.M. ALLAN, D. TODD, J.B. MCFERRAN, R.M. MCCracken, 1981: Isolation from chickens of a rotavirus lacking the rotavirus group antigen. J. gen. Virol. 55, 405-413.

MCNULTY M.S., E.F. LOGAN, 1983: Longitudinal Survey of Rotavirus Infection in Calves. Vet. Rec. 113, 333-335.

MCNULTY M.S., J.B. MCFERRAN, D.G. BRYSON, E.F. LOGAN, W.C. CURRAN, 1976: Studies on rotavirus infection and diarrhea in young calves. Vet. Rec. 99, 229-230.

MEBUS C.A., N.R. UNDERDAHL, M.B. RHODES, H.J. TWIEHAUS, 1969: Calf diarrhea (scours) reproduced with a virus from a field outbreak. Bull. Neb. Agric. Exp. Station 233, 1-16.

MEBUS C.A., R.G. WHITE, E.P. BASS, M.J. TWIEHAUS, 1973: Immunity to Neonatal Calf Diarrhea Virus. J. Am. Vet. Med. Ass. 163, 880-883.

MIDDLETON P.J., 1978: Pathogenesis of Rotaviral Infection.

J. Am. Vet. Med. Ass. 173, 544-545.

MYERS L.L., D.R. SNODGRASS, 1982: Colostral and milk antibody titers in cows vaccinated with a modified live-rotavirus-coronavirus-vaccine.

J. Am. Vet. Med. Ass. 181, 486-488.

NAGY, V.B., L. CSONTOS, V. PALFI, G.Y. NAGY, M. BOZSO, 1986: Polyätiologische diagnostische Erfahrungen bei Kälberdurchfällen im ersten Lebensmonat.

Wien. Tierärztl. Mschr. 73, 181-184.

PEDLEY S., J.C. BRIDGER, J.F. BROWN, M.A. MCCRAE, 1983: Molecular characterization of rotaviruses with distinct group antigens.

J. gen. Virol. 64, 2093-2101.

SACHS L., 1984: Angewandte Statistik: Anwendung statistischer Methoden.

Springer Verlag, Berlin

SAIF L.J., D.R. REDMAN, K.L. SMITH, K.W. THEIL, 1983: Passive Immunity to Bovine Rotavirus in Newborn Calves Fed Colostrum Supplements from Immunized or Nonimmunized Cows.

Infect. Immun. 41, 1118-1131.

SAIF L.J., K.L. SMITH, B.J. LANDMEIER, E.H. BOHL, K.W. THEIL, D.A. TODHUNTER, 1984: Immune response of pregnant cows to bovine rotavirus immunization. Am. J. Vet. Res. 45, 49-58.

SATO, K., Y. INABA, H. KUROGI, E. TAKAHASHI, K. SATODA, T. OMORI, M. MATUMOTO, 1977: Hemagglutination by calf diarrhea coronavirus. Vet. Microbiol. 2, 83-87.

SATO, K., Y. INABA, Y. MIURA, S. TOKUHISA, H. AKASHI, T. SHINOZAKI, M. MATUMOTO, 1981: Neutralizing antibody to calf diarrhea coronavirus in various animal species in japan. Microbiol.Immunol. 25, 623-625.

SCHERRER R., J. COHEN, 1978: Structure of rotavirus. Ann. Med. Vet. 122, 323-335.

SIDDELL, S.T., W. WEGE, V.T. MEULEN, 1982: The structure and replication of coronaviruses. Curr. Top. Microbiol. Immunol. 99, 131-163.

SNODGRASS D.R., K.J. FAHEY, P.W. WELLS, I. CAMPBELL, A. WHITELOW, 1980: Passive Immunity in Calf-Rotavirus Infections: Maternal Vaccination Increases and Prolongs Immunoglobulin G1 Antibody Secretion in Milk. Infect. Immun. 38, 344-349.

SNODGRASS D.R., A.J. HERRING, J. CAMPBELL, J.M. INGLIS,
F.D. HARGREAVES, 1984: Comparison of atypical rotaviruses
from calves, piglets, lambs and man.
J. gen. Virol. 65, 909-914.

SNODGRASS D.R., J.A. HERRING, 1977: The action of
disinfectants on lamb rotavirus.
Vet. Rec. 101, 81.

SNODGRASS D.R., M.L. SMITH, F.L. KRAUTIL, 1982:
Interaction of rotavirus and enterotoxigenic Escherichia
coli in conventionally-reared dairy calves.
Vet. Microbiol. 7, 51-60.

SNODGRASS D.R., P.W. WELLS, 1976: Rotavirus Infection in
Lambs: Studies on Passive Protection.
Arch. Virol. 52, 201-205.

SNODGRASS D.R., P.W. WELLS, 1978: Passive Immunity in
Rotaviral Infections.
J. Am. Vet. Med. Ass. 173, 565-569.

STAIR, E.L., M.B. RHODES, R.G. WHITE, C.A. MEBUS, 1972:
Purification and electron microscopy of a coronaviruslike
agent.
Amer. J. Vet. Res. 33, 1147-1155.

STORZ, J., R. ROTT, 1981: Reactivity of antibodies in human serum with antigens of an enteropathogenic bovine coronavirus.

Med. Microbiol. Immunol. 169, 169-178.

SVENNERHOLM A.M., J. HOLMGREN, L.A. HANSON, B.S.

LINDBLAD, F. QUERESHI, R.J. RAHIMTOOLA, 1977: Boosting of secretory IgA antibody responses in man by parenteral cholera vaccination.

Scand. J. Immunol. 6, 1345-1349.

THIEL B., 1984: Parenterale Vakzination von Mutterkühen mit einer kommerziellen Rota-Coronavirus-Lebendvakzine.

Vet. Med. Diss. Hannover.

TZIPORI S.R., T.J. MAKIN, M.L. SMITH, F.L. KRAUTIL, 1981: Clinical manifestations of Diarrhea in Calves Infected with Rotavirus and Enterotoxigenic Escherichia Coli.

J. clin. Microbiol. 13, 1011-1016.

VAN ZAANE D., J. IJZERMAN, P.W. DE LEEUW, 1986:

Intestinal Antibody Response after Vaccination and Infection with Rotavirus of Calves Fed Colostrum with or without Rotavirus Antibody.

Vet. Immunol. and Immunopathol. 11, 45-63.

WALTNER-TOEWS D., S.W. MARTIN, A.H. MEEK, I. MCMILLAN,
C.F. CROUCH, 1985: A Field Trial to Evaluate the Efficacy
of a Combined Rotavirus-Coronavirus/*Escherichia coli*
Vaccine in Dairy Cattle.
Can. J. Comp. Med. 49, 1-9.

WOODE G.N., 1978: Epizootiology of bovine rotavirus
infection.
Vet. Rec. 103, 44-46.

WOODE G.N., M.E. BEW, M.J. DENNIS, 1978: Studies on cross
protection induced in calves by rotaviruses of calves,
children and foals.
Vet. Rec. 103, 32-34.

WOODE G.N., J.C. BRIDGER, 1975: Viral enteritis of
calves.
Vet. Rec. 96, 85-88.

WOODE G.N., J. JONES, J. BRIDGER, 1975: Levels of
colostral antibodies against neonatal calf diarrhea
virus.
Vet. Rec. 97, 148-149.

WOODE G.N., N.E. KELSO, T.F. SIMPSON, S.K. GAUL, L.E.
EVANS, L. BABIUK, 1983: Antigenic relationships among
some bovine rotaviruses: serum neutralization and cross-
protection in gnotobiotic calves.
J. clin. Microbiol. 18, 358-364.

YOLKEN R.H., H.W. KIM, T. CLEM, R.G. WYATT, A.R. KALICA,
R.M. CHANOCK, A.Z. KAPIKIAN, 1977: Enzyme Linked
Immunosorbent Assay (ELISA) for detection of human
reovirus-like agent of infantile gastroenteritis.
Lancet ii, 263-267.

Herrn Prof. Dr. Dr. h.c. mult. A. Mayr danke ich herzlich für die Überlassung des Themas und die Bereitstellung des Arbeitsplatzes.

Mein besonderer Dank gilt Herrn Dr. W. Eichhorn für die laufende Betreuung und seine stete Unterstützung.

Ganz besonders möchte ich auch Frau M. Heilmann danken, die mich mit unermüdlicher Hilfsbereitschaft bei der Untersuchung der Proben unterstützt hat.

Den Familien Biesinger, Grab, Ruß und Schleker möchte ich für die Hilfe bei der Probengewinnung danken.

Den Kampf gegen den Computer konnte ich nur dank der geduldigen Hilfe von Herrn Dr. P. Hübert gewinnen.

Bei allen Mitarbeitern der Isolierabteilung bedanke ich mich für die freundliche Aufnahme und Unterstützung.

LEBENS LAUF

Am 26. April 1957 wurde ich, Hermann Josef Kettenacker als erster Sohn des Bauern Alban Kettenacker und seiner Ehefrau Maria, geb. Müller, in Riedlingen geboren.

1964-1967 Grundschule in Dürmentingen

1967-1976 Neusprachl. Gymnasium in Riedlingen

1976-1978 Bundeswehr in Murnau/Obb.

1978-1980 Verkaufsfahrer in München und Würzburg

1980-1981 Studium der Volkswirtschaftslehre in Würzburg

1981-1984 Studium der Tiermedizin in Berlin

15.7.1983 Heirat mit der Sonderschullehrerin Karin, geb.

Hundenborn

1984-1986 Studium der Tiermedizin in München

18.11.1986 Staatsexamen

9.12.1986 Approbation als Tierarzt

01. 1987-02. 1988 Assistenztierarzt in Ehingen/Donau

02. 1987 Beginn der vorliegenden Doktorarbeit

